



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

BYRON AMORIM FERREIRA LIMA

CAROLINA DE OLIVEIRA SANTOS SILVA

**AVALIAÇÃO DA DEFICIÊNCIA DE GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE
EM RECÉM-NASCIDOS E SEUS PAIS DO ESTADO DE SERGIPE**

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2017

BYRON AMORIM FERREIRA LIMA
CAROLINA DE OLIVEIRA SANTOS SILVA

**AVALIAÇÃO DA DEFICIÊNCIA DE GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE
EM RECÉM-NASCIDOS E SEUS PAIS DO ESTADO DE SERGIPE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Farmácia da Universidade
Federal de Sergipe como requisito à obtenção
do grau de Bacharel em Farmácia.

ORIENTADORA: DULCE MARTA SCHIMIEGUEL MASCARENHAS LIMA

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2017

BYRON AMORIM FERREIRA LIMA

CAROLINA DE OLIVEIRA SANTOS SILVA

**AVALIAÇÃO DA DEFICIÊNCIA DE GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE
EM RECÉM-NASCIDOS E SEUS PAIS DO ESTADO DE SERGIPE**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
ao curso de Farmácia da Universidade
Federal de Sergipe como requisito à obtenção
do grau de Bacharel em Farmácia.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Dulce Marta Schimieguel Mascarenhas Lima
Universidade Federal de Sergipe

Prof^a. Dr^a. Aurélia Santos Faraoni
Universidade Federal de Sergipe

Prof^o. Sérgio Silva Oliveira
Universidade Tiradentes

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2017

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força concedida nessa longa jornada.

A nossa orientadora professora Dulce Marta Schimieguel Mascarenhas Lima, pela paciência e disponibilidade mesmo com tantas atribuições.

A todos os professores que nos guiaram durante toda a graduação plantando sementes do conhecimento em nós.

A toda equipe do Hospital Universitário, especialmente à equipe da Triagem Neonatal, pela dedicação a pesquisa que gerou muitos frutos, especialmente Djane que sempre esteve muito solícita em ajudar-nos.

A equipe do laboratório de hematologia da UFS, principalmente Wesley, Lúcio. E Yvanna, que junto com Djane, nos acompanhou, instruindo-nos sempre que pode com muita delicadeza.

A todos os pacientes, pois como nossa orientadora enfatiza por “trás de cada amostra sempre tem um paciente, uma história”.

Aos nossos pais que nos fizeram chegar até aqui, tendo paciência amor e compreensão

Aos nossos namorado e namorada que abdicaram da nossa companhia e dando-nos forças nos momentos em que o cansaço se fazia presente.

Aos nossos irmãos, especialmente Rafaella, obrigada por também fazer parte deste trabalho, sendo nossa co-orientadora suplente.

A todos que contribuíram para o nosso crescimento como pessoa e profissionais deixamos aqui nosso carinho.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Hemácias, seguidas da estrutura quaternária representativa da hemoglobina, com ênfase no grupo heme	11
Figura 2	Via de <i>Embeden-Meyerhof</i>	13
Figura 3	Via da hexose monofosfato, <i>shunt</i> da via de <i>Embeden-Meyerhof</i>	14
Foto Ilustrativa 1	(A e B) Avaliação clínica e aconselhamento genético dos pacientes com deficiência confirmada de glicose-6-fosfato desidrogenase	30
Ilustração 1	Localização do gene G6PD no cromossomo X	19
Ilustração 2	Resultados confirmatórios de recém-nascidos do sexo feminino e masculino com deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase no estado de Sergipe	26
Ilustração 3	Correlação entre a presença da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase nos recém-nascidos em suas respectivas mães e pais (indicados)	27
Quadro 1	Alimentos e medicamentos que desencadeiam hemólise em portadores de deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase	15
Quadro 2	Nomenclatura das classes de variantes da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase	17
Tabela 1	Frequência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em recém-nascidos, mães e pais (indicados)	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2,3-DPG	2,3 difosfoglicerato
6PGD	6-fosfogliconato desidrogenase
ATP	adenosina trifosfato
CO	monóxido de carbono
Fe ₂ ⁺	íon ferroso
Fe ₃ ⁺	íon férrico
G6PD	glicose-6-fosfato desidrogenase
GSH	glutathiona reduzida
GSSG	glutathiona oxidada
NADP	nicotinamidaadenina dinucleotídeo fosfato
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
O ₂	oxigênio molecular
PFK	Fosfofrutoquinase
PK	piruvato quinase
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO DA LITERATURA	10
2.1	ERITRÓCITOS, METABOLISMO E ATUAÇÃO DA ENZIMA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE	10
2.2	DEFICIÊNCIA DA ENZIMA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE	15
2.3	CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS DA DEFICIÊNCIA DA G6PD	18
3	OBJETIVOS	21
3.1	OBJETIVO GERAL	21
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4	MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1	CASUÍSTICA E ASPECTOS ÉTICOS	21
4.2	COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	22
4.3	DOSAGEM DA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE	22
4.4	HEMOGRAMA E CONTAGEM DE RETICULÓCITOS	23
4.5	DOSAGEM DE BILIRRUBINAS	23
4.6	MATRICIAMENTO GENÉTICO CLÍNICO MULTIPROFISSIONAL DOS CASOS CONFIRMADOS	23
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	24
6	CONCLUSÃO	31
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
	ANEXOS	37
	ADENDOS	40

RESUMO

As eritroenzimopatias são distúrbios enzimáticos das hemácias que podem levar a hemólise devido à alteração do metabolismo energético destas células. O portador dessa deficiência tem a capacidade reduzida de produzir enzimas, como por exemplo, a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), com funcionamento adequado para degradar a demanda de agentes oxidantes da célula. Há uma estimativa de que ao menos 400 milhões de pessoas possuem mutação no gene de G6PD causando uma deficiência. A deficiência enzimática de G6PD é uma herança recessiva ligada ao sexo, ou seja, o gene que transmite essa condição está localizado no par de cromossomos sexuais. O presente trabalho tem como objetivo realizar o estudo familiar da deficiência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase no estado de Sergipe. O estudo foi realizado em familiares de recém-nascidos com teste inicial positivo para deficiência de G6PD, participantes do Programa de Triagem Neonatal do Estado de Sergipe, analisados entre maio de 2016 a janeiro de 2017. Os pacientes com resultados positivos foram convocados de forma aleatória, para a realização da segunda dosagem de G6PD nos recém-nascidos, e investigação dos familiares. Esta etapa ocorreu entre dezembro de 2016 e janeiro de 2017. Foram avaliadas 11.667 amostras de indivíduos atendidos pelo Programa de Triagem Neonatal do Estado de Sergipe entre maio de 2016 a janeiro de 2017. Destas, 3.463 amostras foram descartadas devido à falta de qualidade, restando 8.204 amostras viáveis. De um total de 539 amostras positivas, foram convocados aleatoriamente 100 recém-nascidos, dos quais compareceram 50 com seus respectivos familiares. A deficiência de G6PD foi confirmada em 20 recém-nascidos (40%) por meio de uma segunda dosagem de G6PD em nova amostra coletada no laboratório. Dos familiares convocados compareceram 49 mães e 17 pais. Destes, 5 mães e 4 pais apresentaram deficiência de G6PD. Ainda são escassas as pesquisas de estudo familiar em pacientes com deficiência de G6PD no Brasil e no mundo, embora seja umas das eritroenzimopatias que mais acomete os indivíduos. Foi observada uma maior prevalência em indivíduos do sexo masculino, que herdaram o gene da mãe, apesar de muitas delas serem consideradas negativas, precisaria se fazer uma investigação genética, pois mulheres podem ser heterozigotas portadoras. Outro interferente são os pais serem indicados pelas mães, logo não há como confirmar se são realmente pais biológicos, o que influenciou diretamente no resultado do estudo.

Palavras-chave: Eritroenzimopatias, G6PD, triagem neonatal, estudo familiar.

1 INTRODUÇÃO

As eritroenzimopatias hereditárias são alterações que afetam genes que codificam as enzimas dos eritrócitos ou hemácias. Os distúrbios enzimáticos mais comuns são as deficiências de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e piruvato quinase (PK). Dessa forma, alteram o metabolismo celular, gerando radicais livres, espécies que agem danificando as células. (KORALKOVA, 2014).

A via da pentose monofosfato é a única fonte de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH) nas hemácias, portanto, elas dependem da G6PD para gerar NADPH para proteção contra espécies oxidativas. Assim, as hemácias são mais vulneráveis a estresses oxidativos do que outras células. Os estresses oxidativos podem desnaturar a hemoglobina e causar hemólise intravascular em pessoas com deficiência de G6PD. A hemoglobina desnaturada pode ser visualizada como corpos de Heinz em extensão de sangue periférico processados com coloração supravital (SCHICK, 2015).

A G6PD é uma enzima codificada na região telomérica do cromossomo X, sendo os homens afetados denominados hemizigotos, enquanto que as mulheres podem ser homozigotas ou heterozigotas (LEY, 2017).

A deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase é um dos distúrbios metabólicos mais comuns das hemácias, e estima-se que atinja a cerca de 400 milhões de pessoas em todo o mundo. Esta eritroenzimopatia pode desencadear anemia hemolítica e icterícia neonatal, comumente quando os indivíduos são expostos a estresse oxidativo provocados pela ingestão de certos alimentos, medicamentos e infecções (SHAH, 2014).

A maior prevalência de deficiência de G6PD no mundo é na África subsaariana (7,9% - 9,1%), seguido pelo Norte da África e Oriente Médio (6,6% - 7,7%). A menor prevalência foi registrada no Pacífico (2,7% - 4,1%) e Europa (2,9% - 4,7%). As estimativas de prevalência para as Américas (4,7% - 5,8%) e Ásia (4,7% - 5,6%) foram semelhantes (RENZAHO, et al., 2014). A prevalência da deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase no Brasil, não está bem definida, entretanto de acordo com pesquisas realizadas em alguns estados pode afetar de 1% a 7% da população (SANTOS et al, 2016).

Em áreas com alta incidência de deficiência de G6PD como Ásia, Europa, África e Oriente Médio foi instituído ou proposto o ensaio de atividade enzimática em programas de triagem neonatal universal via uso de teste da fluorescência resolvida no tempo, considerado quantitativo, para deficiência de G6PD (RELLING, et al., 2014). No Brasil testes de triagem

rápida para deficiência de G6PD, já fazem parte dos testes de triagem neonatal, embora não sejam obrigatórios, como por exemplo, no Distrito Federal (BRASIL, 2008).

O Programa de Triagem Neonatal tem como objetivo identificar distúrbios e doenças metabólicas, enzimáticas, e endocrinológicas em recém-nascidos, prevenindo sequelas ou morte. É de fundamental importância identificar em uma população indivíduos assintomáticos que tem predisposição a desenvolver determinada doença, por exemplo, através do seu histórico familiar. Uma avaliação mais criteriosa pode propiciar a estes pacientes ações preventivas, visto que quanto mais precoce a deficiência for diagnosticada, mais adequado será o tratamento permitindo que a doença se apresente de forma menos severa.

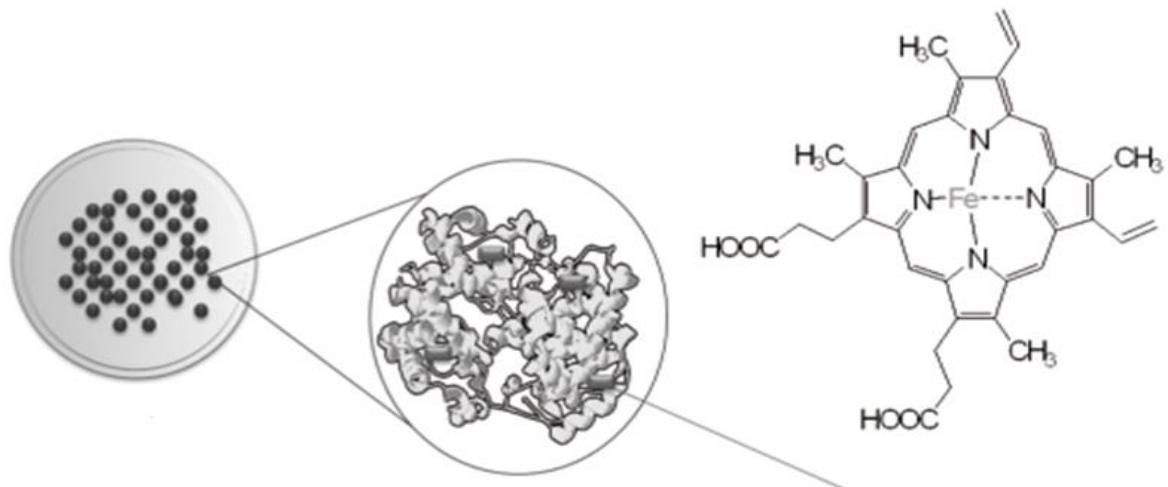
2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ERITRÓCITOS, METABOLISMO E ATUAÇÃO DA ENZIMA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

As hemácias ou eritrócitos são as células sanguíneas responsáveis pelo transporte do oxigênio para os tecidos do organismo. A membrana dessas células possui uma estrutura composta de uma bicamada lipídica, dinâmica que lhe permite sofrer grandes deformações para atravessar fenestras vasculares, fundamental na entrega de oxigênio. A capacidade de deformidade é decorrente da organização estrutural dos componentes da membrana que é necessária para que os eritrócitos desempenhem suas funções fisiológicas em uma vida média por volta de 120 dias (HOFFBRAND, 2013).

A hemoglobina (Figura 1), principal proteína intracelular, confere às hemácias a afinidade para carrear oxigênio e levá-lo aos tecidos. Estruturalmente essa proteína é formada pelo heme e globina que correspondem à estrutura prostética e proteica, respectivamente. O ferro na porção heme se liga ao oxigênio nos capilares dos pulmões. Uma vez que a hemoglobina possui quatro porções heme, a hemácia pode carrear quatro moléculas de oxigênio (O₂) com alta afinidade, facilitando as trocas gasosas. Na respiração, o oxigênio é removido e seu lugar é ocupado pelo gás carbônico produzido, mantendo o pH sanguíneo, bem como a pressão de oxigênio e o equilíbrio ácido-base (TEIXEIRA, 2014).

Figura 1 – Hemácias, seguidas da estrutura quaternária representativa da hemoglobina, com ênfase no grupo heme.



Fonte: Adaptado de SANTOS e CHIN, 2012.

A globina representa o maior peso molecular da estrutura com quatro cadeias de aminoácidos que podem ser do tipo alfa (α), beta (β), gama (γ) e delta (δ). Possui um par da cadeia alfa, e o outro da cadeia beta (HbA), delta (HbA₂) ou gama (HbF). Cada variante da hemoglobina possui propriedades específicas para determinadas condições do organismo, na vida fetal a maior concentração é da HbF e na vida adulta é a HbA (NAGATOMO et al., 2015).

A hemácia é uma célula anucleada, portanto não detém a capacidade de síntese proteica, vital para uma manutenção celular, com isso têm vida média útil reduzida em comparação com outras células. A destruição extravascular ocorre quando a membrana da hemácia vai se tornando mais rígida e menos flexível, esse fato faz com que a mesma seja fagocitada por macrófagos na polpa vermelha durante sua passagem pelo baço. As enzimas presentes no citoplasma destas células fagocitárias degradam a membrana das hemácias e por sua vez as proteínas que elas possuem (BERENTSEN: SUNDIC, 2015).

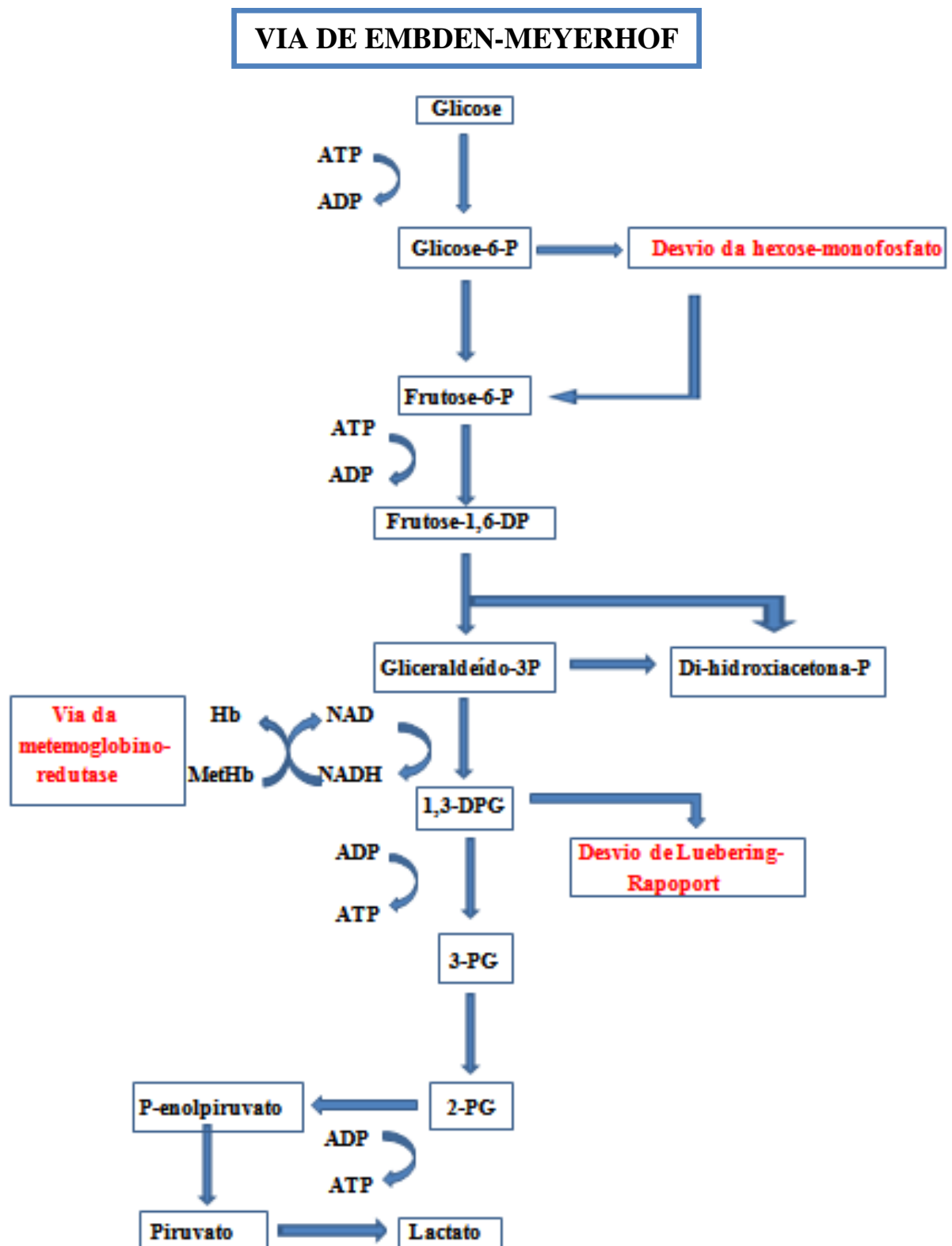
A hemoglobina ao ser destruída libera heme e globina, esta é utilizada para formação de aminoácidos uma vez que é formada por proteína. Os anéis da protoporfirina que fazem parte da estrutura do heme, por sua vez, produzem monóxido de carbono (CO), bilirrubina indireta e ferro livre na forma férrica (Fe^{3+}). O Fe^{3+} se liga à transferrina e segue até a medula óssea, onde será reutilizado na produção de novas hemácias (HOSSEINZADEH: MOOSAVI-MOVAHEDI, 2015).

O carregamento de oxigênio para interior da célula bem como suas demais suas atividades, requerem energia. No entanto, as hemácias não possuem algumas organelas como mitocôndrias. A via de *Embden-Meyerhof* ou o ciclo das pentoses é o mecanismo encontrado por essa célula para a obtenção de energia a partir da molécula de glicose. Esta via (Figura 2) é uma alternativa do ciclo da glicose, em que a molécula de glicose é convertida em duas moléculas de piruvato que posteriormente serão reduzidas, originando assim adenosina trifosfato (ATP) e nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH). Além da produção energética, esse desvio gera espécies oxidativas que podem se tornar muito prejudiciais à hemácia, visto que a falta de mitocôndrias limita seu poder defensivo contra essas espécies (ROGERS et al., 2016).

O único mecanismo defensivo das hemácias contra as consequências oxidativas é a enzima glicose-6-fosfato desidrogenase. Esta atua de forma a reduzir o nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP), que é uma coenzima responsável pela produção da glutathiona reduzida, esta última por sua vez, é o único agente redutor da meta-hemoglobina em hemoglobina. Sendo assim, a falta da G6PD funcional no organismo, acarretará no acúmulo de meta-hemoglobina na hemácia tornando-a ineficaz no transporte de oxigênio e outras funções (KORALKOVA, 2014).

A via de *Embden-Meyerhof* possui três desvios importantes, a via da metahemoglobina redutase, a via de *Rapoport-Luebering*, e a via da hexose monofosfato (via das pentoses). Na primeira via a metahemoglobina oxidada é reduzida produzindo cerca de 3% do íon férrico diário. Na segunda, o 2,3 difosfoglicerato (2,3-DPG) é gerado, sendo este um importante ligante da hemoglobina o qual regula a afinidade desta com o oxigênio que unido a proteína ao chegar nos tecidos, ocorre a troca deste gás pelo 2,3-DPG, sendo esta permuta regulada pela pressão de oxigênio no sangue (NEMKOV et al., 2016).

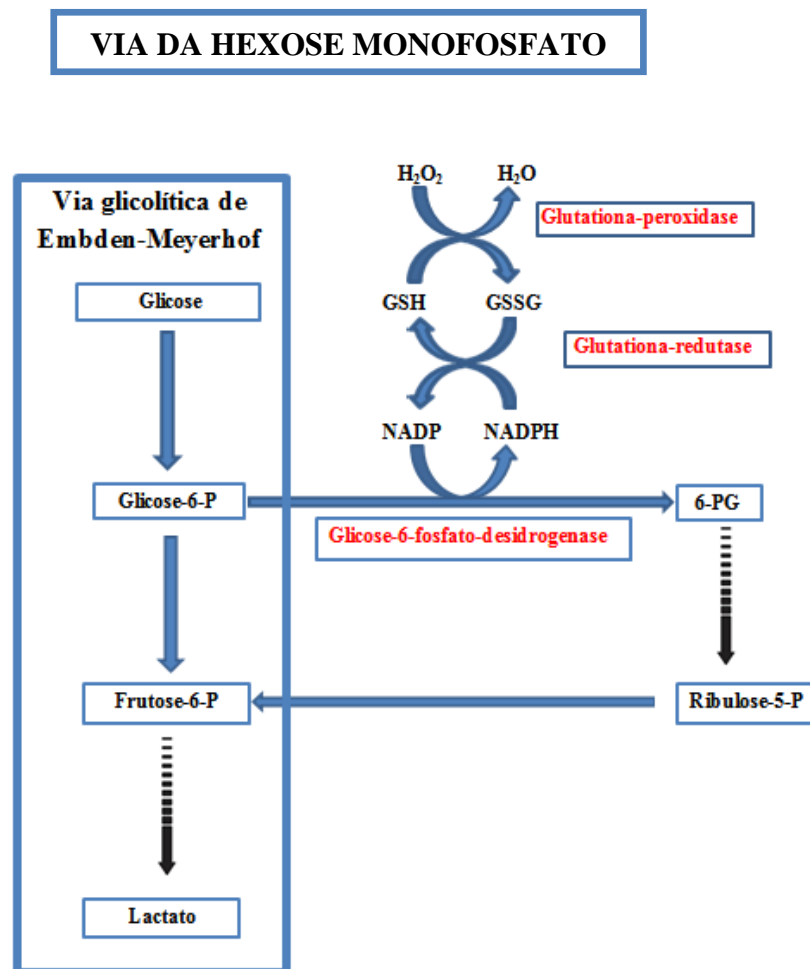
Figura 2 – Via metabólica de *Embeden-Meyerhof*.



Fonte: Modificado de Hoffbrand, 2013.

Na terceira ou via das pentoses (Figura 3), cerca de 10% da glicólise é realizada, a glicose-6-fosfato é convertida em fosfogluconato e ribulose-5-fosfato. O NADPH gerado tem por função manter a glutathiona reduzida, conservando os grupos sulfidrilas da hemoglobina e da membrana eritrocitária, mantendo também o ferro, no seu estado de Fe^{2+} , funcionalmente ativo na hemoglobina (CORKINS et al., 2017).

Figura 3 – Via da hexose monofosfato, *shunt* da via de *Embeden-Meyerhof*.



Fonte: Modificada de Hoffbrand, 2013.

A produção de energia na via das pentoses gera radicais livres que são prejudiciais às hemácias, no entanto, elas possuem um mecanismo de defesa contra esses agentes, como a enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD). Dessa reação tem origem a forma reduzida da NADP^+ , a NADPH , que participará ativamente na redução da glutathiona oxidada (GSSG), para glutathiona reduzida (GSH). O GSH é o agente antioxidante final, formado pela cadeia de

reações, é o responsável por neutralizar grupos oxidantes produzidos por drogas, compostos virais e as próprias reações intracelulares (FARIA, 2016).

2.2 DEFICIÊNCIA DA ENZIMA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

As eritroenzimopatias são distúrbios enzimáticos das hemácias que podem causar anemia hemolítica devido à alteração do metabolismo energético destas células. O portador dessas deficiências tem a capacidade reduzida de produzir enzimas, como a G6PD, com funcionamento adequado para degradar a demanda de agentes oxidantes à célula (ALAARG, 2013).

A insuficiência da atividade biológica da enzima G6PD pode desencadear uma anemia hemolítica. Os indivíduos podem herdar mutações genéticas de enzimas eritrocitárias as quais dificultam as hemácias em condições fisiológicas adequadas de realizarem suas funções, por vezes levando a hemólise (CAPPELLINI e FIORELLI, 2008).

A existência de diversos tipos de anemias possibilita que algumas não sejam detectadas até que o indivíduo apresente sintomas associados a esta condição ou quando ocorram situações que a desencadeiam. Algumas drogas, feijão fava (Quadro 1) e infecções adicionais podem oxidar NADPH, o que desencadeia hemólise em pacientes com deficiência de G6PD. Além da deficiência na atividade dessa enzima, à medida que as hemácias envelhecem a funcionalidade da G6PD diminui, assim, os reticulócitos têm a enzima com maior atividade do que os eritrócitos mais antigos, o que pode afetar o diagnóstico (HALEY, 2016).

Quadro 1 – Alimentos e medicamentos que desencadeiam hemólise em portadores de deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase.

ANTIMALÁRICOS	ALIMENTOS	ANALGÉSICOS/ ANTIPIRÉTICOS	DROGAS CARDIOVASCULARES
Cloroquina Hidroxicloroquina Mepacrina Pamaquina Pentaquina Primaquina Quinina Quinocida	Feijão fava (<i>Canavalia versicolor</i>) Vinho tinto Água tônica Mentol Corantes artificiais azuis Ervilhas (<i>Pisumsativum</i>) Melão amargo (<i>Momordicacharantia</i>)	Acetanilida Acetaminofen Acetofenetidina Ácido acetilsalicílico Amidopirina Antipirina Dipirona Fenacetina Probenicida Piramidona Paracetamol	Procainamida Alfa-metildopa Quinidina Hidralazina
CITOTÓXICOS/ ANTIBACTERIANOS	SULFONAMIDAS/ SULFONAS	OUTROS FÁRMACOS	
Ácido nalidíxico Ácido para-aminosalicílico Cloranfenicol Co-trimoxazol Furazolidona Furmetonol Neoarsfenamina Nitrofurantoina Nitrofurazona Isoniazida	Dapsona Trimetopim Sulfametoxipiridazina Sulfamerazina Sulfaguanidina Sulfisoxazole Sulfasalazina Sulfapiridina Sulfanilamida Sulfametoxipirimidina Sulfacetamida	Ácido paraaminobenzóico Aminopirina Antazolina Azul de metileno Colchicina Difenidramina Dimercaprol Fenilbutazona Fenitoina Isoniazida Mestranol Vitamina K (lipossolúvel) Vitamina C (hidrossolúvel)	

Fonte: Modificado de Oliveira, 2017.

A deficiência da enzima G6PD pode ocorrer com diferentes intensidades levando danos distintos ao portador. A classificação da deficiência de G6PD baseia-se na atividade enzimática residual e na expressão clínica de suas variantes bioquímicas (Quadro2), mais de 400 existentes. As classes da deficiência de G6PD vão de I a V sendo a de classe I, a mais severa, associada à anemia hemolítica crônica não esferocítica, a de classe II é uma deficiência enzimática grave, menor que 10% de atividade residual, a de classe III tem deficiência enzimática moderada com atividade residual 10% a 60% da enzima, a de classe IV tem atividade enzimática normal ou ligeiramente diminuída, entre 60% a 100% de atividade, a última, de classe V é uma superatividade da enzima que está aumentada e maior que 150% (COMPRI; SAAD; RAMALHO, 2000).

Quadro 2 – Nomenclaturadas classes de variantes da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase.

CLASSE I	CLASSES II	CLASSE III	CLASSE IV	CLASSE V
Atividade da enzima muito baixa (< 5%)	Deficiência enzimática grave (< 10% de atividade residual)	Deficiência enzimática moderada (10% a 60% de atividade residual)	Atividade enzimática normal ou ligeiramente diminuída (60% a 100% atividade residual)	Atividade enzimática aumentada (>150% de atividade)
Associada à anemia hemolítica crônica não esferocítica	Risco de anemia hemolítica aguda induzida por favismo	Risco de anemia hemolítica aguda induzida por droga	Portadores assintomáticos	Sem doença associada
97 variantes, apenas uma polimórfica	122 variantes, sendo 37 polimórficas	103 variantes, sendo 22 polimórficas	52 variantes, sendo 12 polimórficas	2 variantes, nenhuma polimórfica

Fonte: Compri: Saad: Ramalho, 2000.

Há uma estimativa de que ao menos 400 milhões de pessoas possuem mutação no gene de G6PD causando uma deficiência. A prevalência mais significativa é relatada na África, sul da Europa, Oriente Médio, Sudeste Asiático e nas ilhas do Pacífico. No entanto, devido à migração, também é prevalente na América do Norte e do Sul e em partes do norte da Europa. Em regiões como na África Central e no Oriente Médio, a prevalência é de até 26% e no Sudeste Asiático varia entre 3% e 18%, dependendo da área. Apresenta-se menor que 0,5% no Hemisfério Norte, incluindo o norte da Europa, Reino Unido, Rússia, norte da China e países escandinavos (CAPPELLINI E FIORELLI, 2008; BOONYUEN et al., 2017).

As pesquisas mais recentes em países endêmicos de malária previu a maior prevalência de deficiência de G6PD, podendo atingir 32,5% na África subsaariana e Península Arábica, mas raramente ultrapassando 20% no sudeste da Ásia. Já nos Estados Unidos, os

principais acometidos são homens afrodescendentes, com prevalência de cerca de 10%. (GUNAWARDENA et al., 2017; SHICK, 2016).

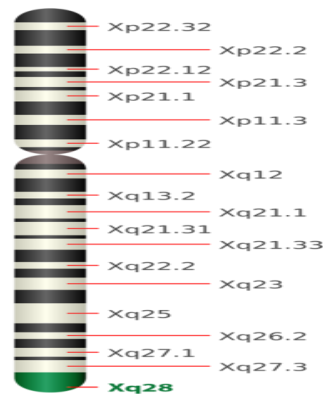
No Brasil a prevalência estimada da doença está em torno de 7%. Ocorre uma variação da desta, nos estados brasileiros estando entre 1,7% e 3,6% no interior de São Paulo, 3,9% no Rio Grande do Norte, 7,9% no Rio Grande do Sul e no Distrito Federal de 2,91% (FARIA, 2016). No estado de Sergipe, a prevalência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em recém-nascidos é de 9,35% (OLIVEIRA, 2017).

2.3 CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS DA DEFICIÊNCIA DA G6PD

A G6PD é uma proteína com atividade catalítica formada por organizações quaternárias de aminoácidos dos quais 515 compõem sua porção ativa, que têm afinidade para os substratos de G6PD e de NADP. As mutações estão ligadas a diferentes graus de deficiência para atividade da enzima e estão divididas em cinco grupos de acordo com gravidade da deficiência. Do grupo I ao V estão organizadas as mutações em ordem decrescente de potencial risco ao desenvolvimento de doenças, ou seja, as mutações da classe I têm atividade da enzima muito baixa, associado à anemia hemolítica não esferocítica e as mutações do grupo V tem atividade enzimática alta e não tem doenças associadas (LUZZATTO et al., 2016).

A enzima G6PD é produzida por meio de uma codificação do gene que se localiza na região subtelomérica do braço longo do cromossomo X, banda Xq28 (Ilustração 1), possuindo 13 *exons* e 12 *introns*, no qual a região promotora é rica em guanina e citosina. Condições genéticas fazem com que essas regiões possuam variações polimórficas acarretando em mudanças na produção e/ou funcionamento desta enzima (SCOTT et al., 2016).

Ilustração 1 – Localização do gene G6PD no cromossomo X.



Fonte: <https://en.wikipedia.org/wiki/Xq28>, acesso 03/10/2017, 09:09.

A deficiência enzimática de G6PD é uma herança recessiva ligada ao sexo, ou seja, o gene que transmite essa condição está localizado no par de cromossomos sexuais. Esse gene é localizado no cromossomo X, tornando assim o sexo masculino mais afetado por essa deficiência, uma vez que o sexo feminino possui dois cromossomos X (XX) e o masculino possui apenas um (XY). Os resultados associados à deficiência de G6PD podem ser relatados como homem hemizigoto, por exemplo, um alelo variante de classe I-III, mulher homozigota, com dois alelos deficientes de classe I-III idênticos com mesma variante, mulher heterozigota composta, dois diferentes alelos deficientes de classe I-III com diferentes variantes, e mulher heterozigota com um alelo de classe IV normal e um deficiente alelo de classe I-III (CAROÇA et al., 2017).

Mulheres carregam um par de cromossomos X, possuem então capacidade de produzir a enzima G6PD funcional ou deficiente. Se portar apenas um cromossomo com o gene que codifica a G6PD deficiente ainda poderá expressar a enzima com capacidade normal, dependendo qual cromossomo X está ativo na célula. Porém se o indivíduo é do sexo masculino (XY) e herdar o gene deficiente para a produção da enzima, por possuir apenas um cromossomo não será somente portador, mas terá uma probabilidade maior de apresentar eventos de hemólise se exposto a agentes oxidantes (HOWES, 2013).

Alguns casos em que variantes estiverem presentes, o diagnóstico de deficiência de G6PD pode ser feito com base em resultados genotípicos. Homens hemizigotos, mulheres homozigotas e mulheres heterozigotas compostas são classificadas como deficientes em

G6PD. Para os raros pacientes do sexo masculino que possuem dois cromossomos X (síndrome de Klinefelter), o genótipo G6PD deve ser interpretado como se fossem do sexo feminino. Determinar o fenótipo G6PD em mulheres heterozigotas com um alelo de classe IV normal e um alelo de classe I-III deficiente, não é possível. Somente com base em testes genéticos, devido ao cromossomo X inativado em mulheres e esta inativação do cromossomo X, pode acontecer em uma porcentagem variável de células somáticas, inativa o alelo normal ou de baixa atividade e traduz-se em mulheres heterozigotas com hemácias deficientes e com atividade normal em G6PD (PEIRETTI et al., 2010).

Nos homens, os resultados da atividade da enzima G6PD geralmente são claros, inclusive em recém-nascidos, que tendem a ter maior atividade que o observado em crianças e adultos mais velhos. O principal risco de erros de classificação em homens é quando houver hemólise recente, porque a atividade da G6PD em reticulócitos e hemácias jovens são maiores, ou transfusão de sangue recente porque o sangue transfundido provavelmente será G6PD normal. Em programas universais de triagem neonatal via uso de teste da fluorescência resolvida no tempo, considerado quantitativo para deficiência de G6PD, o ensaio de atividade enzimática foi instituído ou proposto em áreas com alta incidência de deficiência de G6PD, como Ásia, Europa, África e Oriente Médio (RELLING, et al., 2014).

Todas as mutações do gene G6PD que resultam em enzima deficiente afetam a sequência de codificação. Dentre as centenas de mutações relatadas, a maioria das quais são substituições de base única que levam a substituições do aminoácido ou pequenas deleções que são exceções. As mutações pontuais são distribuídas por toda a região de codificação e um conjunto delas que causam um fenótipo grave, classe I, anemia hemolítica crônica não esferocítica, ocorre nos *exons* 10 e 11 aminoácidos 380-430, perto da interface do dímero (CAPPELINNI: FIORELLI, 2008).

Muitas mutações pontuais foram verificadas em diferentes partes do mundo, o que sugere que sua provável origem vem de novas mutações que surgiram de forma independente. Além das mutações que levam à deficiência enzimática, muitos locais em *introns* polimórficos foram identificados, permitindo a definição de haplótipos de G6PD. Estes haplótipos foram utilizados na tentativa de entender a história evolutiva do gene da G6PD auxiliando no estudo da malária. Ocorreu a construção e análise de distribuição de haplótipos de G6PD, em diferentes populações, para determinar se havia correlação entre a coevolução da malária (*Plasmodium falciparum*) e o *locus* G6PD. A adaptação de haplótipo, em regiões

geográficas, justificaria a diversidade fenotípica verificada pela resistência ou suscetibilidade humana à malária ocasionada pelo *locus* G6PD (DOS SANTOS, 2005).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a deficiência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase em recém-nascidos e seus pais do estado de Sergipe.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Confirmar o diagnóstico de um grupo de recém-nascidos com teste inicial positivo para baixa atividade de glicose-6-fosfato desidrogenase do Programa Nacional de Triagem Neonatal de Sergipe;
- Detectar a anemia hemolítica em decorrência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em recém-nascidos, pais e mães portadores;
- Realizar a assistência da avaliação clínica inicial dos pais, mães e recém-nascidos portadores da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 CASUÍSTICA E ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo longitudinal e transversal, com o método de estatística descritiva foi realizado em familiares de recém-nascidos com teste inicial positivo para baixa atividade de G6PD, participantes do Programa de Triagem Neonatal do Estado de Sergipe, analisadas entre maio de 2016 a janeiro de 2017.

Os pacientes com resultados positivos foram convocados de forma aleatória, para a realização da segunda dosagem de G6PD nos recém-nascidos, e investigação dos familiares. Esta etapa ocorreu entre dezembro de 2016 e janeiro de 2017.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Sergipe sob número 1.516.348 (Anexo1). Os responsáveis foram esclarecidos quanto aos objetivos da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – Adendos 1 e 2) de acordo com a Resolução CNS nº 466/2012 (BRASIL, 2012).

4.2 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras foram coletadas e processadas no Laboratório de Análises Clínicas, no Setor de Triagem Neonatal do Hospital Universitário de Sergipe/HU-UFS/EBSERH.

As amostras dos recém-nascidos foram coletadas por punção calcânea em papel de filtro, e venosa nos familiares, para a dosagem de G6PD e frascos com EDTA e sem anticoagulante, para os hemogramas e bioquímica respectivamente.

Os papéis de filtro com as amostras coletadas de recém-nascidos e familiares foram picotados em perfurador automático *Wallac DBS Puncher* (Perkin Elmer, Turku, Finlândia) com diâmetro de 3.2 mm em uma microplaca específica, diretamente em poços.

4.3 DOSAGEM DA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

A dosagem da G6PD foi realizada utilizando reagente do kit Neonatal G6PD (Perkin Elmer, Turku, Finlândia) que adota metodologia quantitativa com análise por fluorescência por tempo resolvido, com análise no aparelho Victor D da Perkin Elmer.

O reagente substrato de G6PD foi reconstituído com 11mL da solução de reconstituição e 100µL foram adicionados a cada poço que continha um disco de papel de filtro, posteriormente as amostras picotadas foram incubadas à temperatura ambiente por 30 minutos com agitação lenta no agitador *Delphia Plate shake* (Perkin Elmer, Turku, Finlândia).

Ao fim da reação, 200µL do *Copper Reagent* foram adicionados a cada poço para tornar a reação mais lenta. Os picotes flutuantes foram retirados. A fluorescência foi medida pelo fluorômetro Victor D (Perkin Elmer, Turku, Finlândia) em até 15 minutos após adição do *Cooper Reagent* em filtro com 355nm de excitação e 460nm de emissão (GOYAL, 2015).

4.4 HEMOGRAMA E CONTAGEM DE RETICULÓCITOS

O hemograma foi realizado no analisador hematológico automático *Cell Dyn Ruby* (Abbott, Illinois, Estados Unidos) que emprega a metodologia MAPSS (Separação de Dispersão Polarizada de Ângulo Múltiplo), e citometria de fluxo a laser.

Neste método foi utilizado uma alíquota de 5mL de sangue periférico para a execução da análise dos seguintes parâmetros: concentração de leucócitos (diferenciação em neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos), concentração de plaquetas, concentração de hemácias, hematócrito, hemoglobina e índices hematimétricos e contagem de reticulócitos (LEERS, 2011). Também foram realizadas extensões sanguíneas, posteriormente coradas pelo método de *Leishmann* (LEWIS, 2006) e analisadas ao microscópio óptico para a contagem diferencial de leucócitos circulantes. Para a contagem de reticulócitos foram incubados 20µL de sangue periférico em um tubo próprio por 15 minutos a temperatura ambiente posteriormente homogeneizada a amostra e realizada a leitura no aparelho *Cell Dyn Ruby* (LEERS, 2011).

4.5 DOSAGEM DE BILIRRUBINAS

A dosagem de bilirrubinas foi realizada no aparelho CMD 800i (*Wiener*, Rosário, Argentina), que realiza dosagens bioquímicas. Para este método, foi utilizada uma alíquota de 5mL de sangue periférico coletada sem anticoagulante (WIENER, 2000).

4.6 MATRICIAMENTO GENÉTICO CLÍNICO MULTIPROFISSIONAL DOS CASOS CONFIRMADOS

Pacientes e familiares com casos confirmados da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase foram encaminhados para acompanhamento clínico e aconselhamento genético pela equipe de hematologistas do ambulatório do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe, localizado na Rua Cláudio Batista número 505, Bairro Palestina, Aracaju, Sergipe. Uma reunião foi realizada com o objetivo de esclarecer os dados referentes a doença, incluindo o diagnóstico, provável curso da condição, condutas disponíveis para evitar a manifestação clínica bem como o modo como a hereditariedade contribui para a doença.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram avaliadas **11.667** amostras de indivíduos atendidos pelo Programa de Triagem Neonatal do Estado de Sergipe entre maio de 2016 a janeiro de 2017. Destas, **3.463** amostras foram descartadas devido à falta de qualidade, restando **8.204** amostras viáveis.

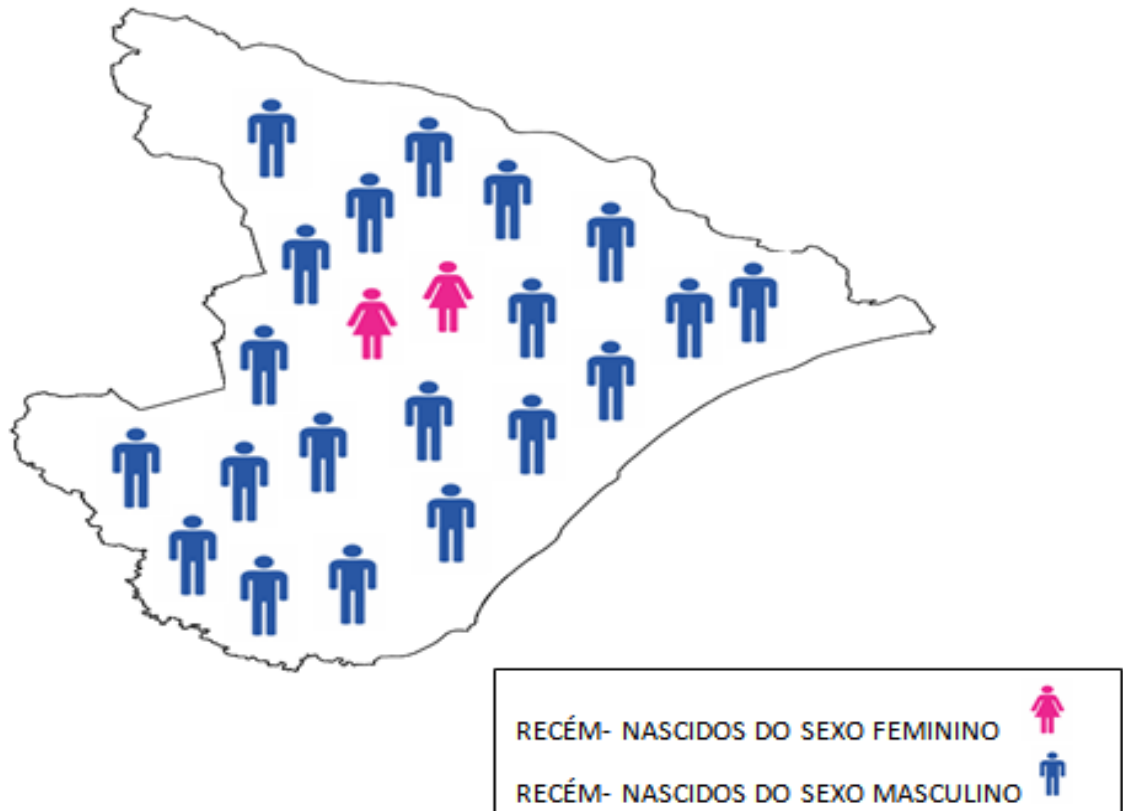
De um total de **539 amostras positivas**, foram convocados **100** recém-nascidos da grande Aracaju, dos quais compareceram **50** com seus respectivos familiares. A deficiência de G6PD foi confirmada em **20 recém-nascidos** (40%) por meio de uma segunda dosagem de G6PD em nova amostra coletada no laboratório. Essa diferença pode ser explicada com fatores envolvidos na primeira análise que poder ter sofrido interferentes de tempo entre a coleta e a realização do ensaio, condições de temperatura e umidade no transporte, levando a resultados falsos positivos (DOS SANTOS, 2016). Dos familiares convocados compareceram 49 mães e 17 pais. Destes, 5 mães e 4 pais apresentaram deficiência de G6PD (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Frequência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em recém-nascidos, mães e pais (indicados).

Grupos	Total	Deficiente(%)	Não Deficiente(%)
Recém-nascidos	50	20 (40%)	30 (60%)
Mães	49	5 (10,20%)	44 (89,80%)
Pais (indicados)	17	4 (23,53%)	13 (76,47%)
Total	116	29 (25%)	87 (75%)

Nos 20 recém-nascidos com deficiência comprovada para G6PD, 2 (10%) foram do sexo feminino e 18 (90%) do sexo masculino (Ilustração 2), com uma proporção de 9:1 recém-nascidos masculinos em relação aos femininos positivos para o teste de G6PD.

Ilustração 2 – Gráfico representativo dos resultados confirmatórios de recém-nascidos do sexo feminino e masculino com deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase no estado de Sergipe

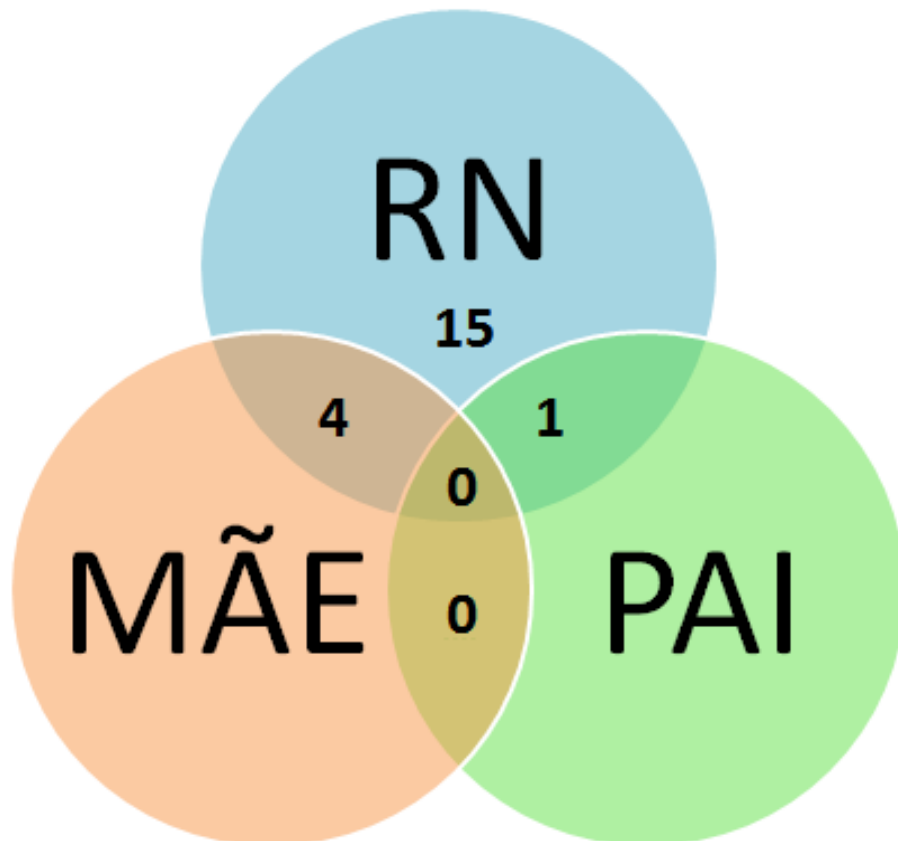


Goyal e colaboradores (2015) em um estudo com neonatos verificaram que de 90 recém-nascidos que realizaram testes confirmatórios da deficiência de G6PD, 76 pertenciam ao sexo masculino. A frequência do alelo G6PD deficiente é maior no sexo masculino, aproximadamente 220 milhões de homens e 133 milhões de mulheres em países endêmicos de malária (HOWES et al., 2012). Carvalho e colaboradores (2011) encontraram em sua pesquisa uma proporção de 8:3 na relação de recém-nascidos de sexo masculino e feminino respectivamente. Em um estudo semelhante, Hasan e colaboradores (2017) constataram uma proporção de 42% de recém-nascidos do sexo masculino com algum tipo de deficiência de G6PD, dessa forma podemos perceber que o estudo e exames acerca dessa doença, são cada vez mais indispensáveis.

Dos 20 recém-nascidos positivos, compareceram para a realização dos testes do estudo familiar, 11 casais (pais e mães), de 8 recém-nascidos positivos, somente a mãe compareceu, e de um deles não compareceu nem o pai, nem a mãe. Em relação à positividade dos familiares, não houve nenhum caso onde pai e mãe fossem positivos concomitantemente. Em

5 recém-nascidos positivos, pelo menos um dos familiares foi positivo, sendo quatro mães e um pai. Em 15 recém-nascidos positivos não foi observado positividade nem no pai e nem na mãe (Ilustração 3).

Ilustração 3 – Correlação entre a deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase nos recém-nascidos, com seus respectivos pais (indicados) e mães.



Em cinco recém-nascidos positivos para deficiência de G6PD, é possível reconhecer a origem de seu gene com a deficiência. Visto que em quatro daqueles cinco casos, a criança recebeu o gene deficiente da mãe e apenas em um caso recebeu a deficiência do pai. Os dados corroboram com a literatura uma vez que a probabilidade de uma criança herdar o gene X da mãe é dobrada devido ao seu genótipo sexual ser XX e o do pai ser de XY.

Dos 15 recém-nascidos que não se pode conhecer a origem do gene deficiente, um é do sexo feminino, a mãe foi negativa e o pai não compareceu e em outro do sexo masculino o qual não compareceu nem o pai, nem a mãe. Em 13 recém-nascidos do sexo masculino suas mães apresentaram resultado negativo. Reading e colaboradores em, 2016 afirmam que apesar do sexo masculino somente herda a deficiência enzimática da mãe, logo nos remete a um

diagnóstico que necessita de maior investigação genética para estas mães consideradas em um primeiro momento negativas.

No entanto, houve quinze recém-nascidos que apresentaram resultados positivos para o teste de deficiência para G6PD e nenhum dos dois familiares responderam da mesma forma ao teste. A justificativa pode estar nos genes sexuais maternos, pois a mãe pode comportar-se como uma portadora dessa doença, porque apresentará um cromossomo X sem a deficiência, porém pode transmitir o cromossomo X deficiente para o seu filho. Dessa forma, ao receber o gene com deficiência da mãe, a criança, principalmente do sexo masculino, poderá desenvolver a deficiência da G6PD mesmo sem que seus pais apresentem a mesma enfermidade.

Das 50 mães que foram convocadas para fazer a dosagem da G6PD, 49 compareceram, dentre estas 5 (10%) foram positivas, no entanto dentre as positivas, em uma o recém-nascido foi negativo. Esse número poderia se tornar mais expressivo, se a dosagem pudesse detectar com maior precisão mulheres heterozigotas portadoras da deficiência enzimática de G6PD. A relação de crianças-mães positivas é de 25%, esses dados de 4:1, mães heterozigotas podem entrar em contato com espécies oxidativas, desencadeando crises hemolíticas agudas e seus reticulócitos, possuem as enzimas G6PD mais ativas, o que ocasiona resultado falso negativo na dosagem, diminuindo significativamente a relação de herança das mães dos recém-nascidos (ABDULRAZZAQ, et al., 1999; BANCONE et al., 2014).

Entre os 50 pais (indicados) convocados, 17 compareceram, destes 4 (24%) foram positivos. Apenas um pai e recém-nascido foram positivos juntos. Os demais pais positivos, provavelmente transmitiram o gene G6PD deficiente, tornando seus filhos portadores, embora negativos na dosagem. Outros testes genéticos seriam necessários para comprovar a existência do gene deficiente nos filhos portadores. Em números absolutos a relação entre crianças-pais positivos é de 5:1. Essa proporção não traduz a realidade, pois muitos pais estiveram ausentes (33). Os resultados dos familiares positivos verificados proporcionalmente neste estudo familiar demonstram sua maior incidência na população masculina (SAIF, 2017).

A deficiência da G6PD está no organismo humano de várias formas, desde mutações que não produzem efeitos prejudiciais ao funcionamento do organismo, as mutações assintomáticas, até deficiências tão significativas que geram icterícia neonatal grave, que levam muitas vezes ao óbito.

A maioria dos pacientes com essa condição está entre esses extremos. Eles são assintomáticos até serem expostos a uma situação de estresse oxidativo intenso que pode ser causada por fármacos, infecções ou até outras doenças. Assim o paciente poderá desenvolver crise hemolítica ou anemia a depender da recorrência destes episódios (GÓMEZ-MANZO, 2016).

Foram feitos alguns exames complementares, quatro recém-nascidos apresentaram resultados abaixo do valor de referência para hemácias, hemoglobina e hematócrito e contagem de reticulócitos e dois mostraram resultados acima do valor de referência para dosagem de bilirrubinas. Somente dois recém-nascidos positivos na segunda dosagem de G6PD, foram identificados com hiperbilirrubinemia, mas níveis discretamente acima do normal o que não faz referência com a gravidade da encontrada na deficiência de G6PD.

Foi verificada certa tendência de diminuição nos parâmetros do hemograma de pacientes com resultados positivos para deficiência de G6PD. Embora não apresentaram crise hemolítica, que a depender da extensão, biomarcadores são de fundamental importância, como número de hemácias e presença anormal de reticulócitos na circulação periférica, no diagnóstico de anemias graves (CHAMI et al, 2016).

O grande número de casos de recém-nascidos e familiares com a deficiência para a G6PD mostra a importância dessa pesquisa, visto que poucos estudos foram encontrados nessa mesma linha. No nordeste, onde os dados são mais escassos, foram encontradas novas mutações da G6PD, Gómez-Manzo e colaboradores (2016) encontraram uma nova mutação na enzima G6PD em cinco neonatos de Salvador. Essa mesma mutação não foi encontrada em recém-nascidos não portadores da deficiência, logo a causa da deficiência foi atribuída a essa nova mutação enzimática. A nova enzima G6PD pode ser classificada como classe II, deixando o eritrócito com atividade em menos de 10% de sua capacidade normal o que cria um risco significativo para crises hemolíticas agudas (NETO 2008).

Os vinte e cinco pacientes que tiveram confirmada a deficiência de G6PD participaram de uma avaliação clínica, onde se pode esclarecer a doença, e comunicar a importância da precaução com a ingestão de determinados alimentos e medicamentos que possam desencadear crise hemolítica. O aconselhamento genético foi promovido com intuito de instruir como a hereditariedade influencia no aparecimento da deficiência reforçando a relevância de um prévio diagnóstico (Foto Ilustrativa 1).

Foto Ilustrativa 1 – (A e B) Registro do matriciamento da avaliação clínica e aconselhamento genético dos pacientes com deficiência confirmada de glicose-6-fosfato desidrogenase.



Fonte: Cedida pela equipe de matriciamento clínico.

Ainda que o estudo tenha apresentado muitas mães negativas com filhos do sexo masculino positivos, precisaria se fazer uma investigação genética para esclarecimento do genótipo e um real diagnóstico. Além destes limitantes no estudo, outro interferente no resultado são os pais convocados serem os indicados pelas mães e não há afirmar se estes são os pais biológicos, por isso foram denominados “pais indicados”.

6 CONCLUSÃO

Nos exames confirmatórios foi observada uma maior prevalência em indivíduos do sexo masculino, tantos entre os recém-nascidos quanto em seus familiares. Entre os pacientes positivos não houve nenhum caso de crise ou anemia hemolítica em decorrência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase, embora tenha sido notada diminuição dos parâmetros do eritrograma. O acompanhamento da avaliação clínica inicial dos pais, mães e recém-nascidos portadores da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase, foi realizado proporcionando maiores esclarecimento a cerca desta eritroenzimopatia.

Este trabalho permitiu verificar que ainda são escassas as pesquisas no que diz respeito ao estudo familiar de pacientes com deficiência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase, não somente no Brasil, bem como no mundo, embora seja umas das eritroenzimopatias que mais acomete os indivíduos.

Por fim este estudo pode servir como base para pesquisas futuras na mesma linha, onde seja possível a diferenciação de mulheres portadoras do gene para a deficiência da G6PD das mulheres que não possuem a deficiência da G6PD.

7 REFERÊNCIAS

- ABDULRAZZAQ, Y. M., et al. Diversity in expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in females. **Clinical Genetics**, v. 55, p. 13–19, 1999
- ALAARG, A. et al. Red Blood Cell Vesiculation in Hereditary Hemolytic Anemia. **Frontiers in Physiology**. v. 4, p. 365, 2013
- BANCONE, G., et al. Asian G6PD-Mahidol Reticulocytes Sustain Normal Plasmodium Vivax Development. **The Journal of Infectious Diseases**, v 6, p. 216-263, 2017
- BERENTSEN, S; SUNDIC, T. Red blood cell destruction in autoimmune hemolytic anemia: Role of complement and potential new targets for therapy. **BioMed Research International** v 2015, p.1-12, 2015
- BOONYUEN, U. et al., Detailed functional analysis of two clinical glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) variants, G6PD^{Viangchan} and G6PD^{Viangchan} + Mahidol: Decreased stability and catalytic efficiency contribute to the clinical phenotype. **Molecular Genetics and Metabolism**.v 118, p. 84–91, 2016
- BRASIL. **Resolução n. 466, de 12 de dezembro de 2012**. Aprova as seguintes diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Acesso em 14/07/2017, às 15:08. Disponível em: <<http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>>
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Assistência à Saúde. Coordenação Geral de Atenção Especializada. Manual de normas técnicas e rotinas operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal**. 2ª ed. Brasília. 2008
- BROEK, L. V. D.; HEYLEN, E.; AKKER, M. V. D. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: not exclusively in males. **Clinical Case Reports**. 2016; 4 (12):1135–1137
- CAPPELLINI, M. D.; FIORELLI, G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. **Lancet**, v 371, p. 64–74, 2008

CAROÇA, C. et al. *G6PD* Variants, Malaria and Sensorineural Hearing Loss in São Tomé and Príncipe: A Case-Control Study. **International Journal of Medical Research & Health Sciences**, v 6, p. 8-16, 2017

CARVALHO, C. G., et al., Glucose-6-phosphate-dehydrogenase deficiency and its correlation with other risk factors in jaundiced newborns in Southern Brazil. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v 1, p. 110-113, 2011

CHAMI, N. et al. Exome Genotyping Identifies Pleiotropic Variants Associated with Red Blood Cell Traits. *The American Journal of Human Genetics* 99, 2016

CORKINS, M. E. The gluconate shunt is an alternative route for directing glucose into the pentose phosphate pathway in fission yeast. **The Journal of Biological Chemistry**. v 292, p. 13823-13832, 2017

COMPRI, M. B.; SAAD, S. T. O.; RAMALHO, A. S. Investigação genético-epidemiológica e molecular da deficiência de G-6-PD em uma comunidade brasileira. **Cad. Saúde Pública**, v 16, p. 335-342, 2000

DOS SANTOS, J. C. Investigação de mutações no loco *G6PD* (B, A^{+A376G}, A^{-G202A}, B^{Med}) em duas localidades de Porto Velho – RO. **Dissertação** (Mestrado). Universidade Federal de Rondônia. Rondônia, 2005

DOS SANTOS, J. L.; CHIN, C. M. Anemia falciforme: Desafios e avanços na busca de novos fármacos. **Quim. Nova**. v 35, p. 783-790, 2012

DOS SANTOS, Y. L. C. O. Interferentes na técnica quantitativa para diagnóstico da Deficiência da Glicose-6-Fosfato Desidrogenase em amostras de triagem Neonatal. **Trabalho de conclusão de curso** (Graduação em Farmácia). Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2016

FARIA, D. C., et al. Manifestações clínicas em crianças portadoras da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (*G6PD*): revisão integrativa. **Revista de Medicina e Saúde de Brasília**, v 5, p. 298-306, 2016

GÓMEZ-MANZO, S., et al. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase: Update and Analysis of New Mutations around the World. **International Journal of Molecular Sciences**, v 17, p. 1-15, 2016

GOYAL, M. et al. Newborn Screening for G6PD Deficiency: A 2-year Data from North India. **Indian Journal of Public Health**, v 59, p.145-148, 2015

GUNAWARDENA, S. et al., Prevalence of G6PD deficiency in selected populations from two previously high malaria endemic areas of Sri Lanka. **Plos one**. v 12, p. 1-13, 2017

HALEY, K. Congenital Hemolytic Anemia. **Medical Clinics of North America**, v 101, p. 361-374, 2017

HASAN, M. I., et al. Neonatal indirect hyperbilirubinemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. **Korean J Pediatr**, v 60, p. 106-111, 2017

HOSSEINZADEHB, R.; MOOSAVI-MOVAHEDI, A. A. Human hemoglobin structural and functional alterations and heme degradation upon interaction with benzene: A spectroscopic study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v 157, p. 41-49, 2016

HOFFBRAND, A.V.; MOSS, P. H. A., **Fundamentos em Hematologia**. 6^a ed., Porto Alegre, Artmed, p.2-29, 2013

HOWES, R. E. et al. Spatial distribution of G6PD deficiency variants across malaria-endemic regions. **Malaria Journal**., v 12, p. 1-15, 2013

HOWES, R.E., et al. G6PD deficiency prevalence and estimates of affected populations in malaria endemic countries: a geostatistical model-based map. **PLoS Med**, v 9, p. 1-15, 2012

KORALKOVA, P.; VAN SOLINGE, W. W.; VAN WIJK, R. Rare hereditary red blood cell enzymopathies associated with hemolytic anemia – pathophysiology, clinical aspects, and laboratory diagnosis. **Int. J. Lab. Hematol**. v. 36, p. 388–397, 2014

LEY, B et al. A Comparison of Three Quantitative Methods to Estimate G6PD Activity in the Chittagong Hill Tracts, Bangladesh. **PLOS ONE**, v 12, 2017.

LEERS, M. P. G., GOERTZ, H., FELLER, A. and HOFFMANN, J. J. M. L, **Performance evaluation of the Abbott CELL-DYN Ruby and the Sysmex XT-2000i haematology analysers**. International Journal of Laboratory Hematology, v 33, p. 19–29, 2011

LEWIS, S. M.; BAIN, B. J.; BATES, I. Dacie and Lewis Practical Haematology. **Elsevier**, v 10, 2006

LUZZATTO, L., et al. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. **HematolOncolClin N Am**, v 30, p. 373–393, 2016.

NAGATOMO, S., et al. An Origin of Cooperative Oxygen Binding of Human Adult Hemoglobin: Different Roles of the α and β Subunits in the $\alpha_2\beta_2$ Tetramer. **PLOS ONE** 10(8): e0135080. doi:10.1371/journal.pone.0135080, 2015

NEMKOV T. et al. Metabolomics in transfusion medicine. **Transfusion** v 56, p. 980–993, 2016

NETO, J. P.M., et al. A novel c.197T → A variant among Brazilian neonates with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. **Genetics and Molecular Biology**, v 31, p. 33-35, 2008

OLIVEIRA, D. A. Prevalência da deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase em recém-nascidos do estado de Sergipe. 2017. 73 pg. **Dissertação** (Mestrado) – Universidade Federal de Sergipe. Sergipe, 2017

PEIRETTI E. et al. Glucose-6-phosphate-dehydrogenase Deficiency as a Risk Factor for Pterygium. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v 51, p. 2928-2935, 2010

PERKIN ELMER. Neonatal G6PD Kit.13905225-8 (br). 2014

READING, N. S. et al. Favism, the commonest form of severe hemolytic anemia in Palestinian children, varies in severity with three different variants of G6PD deficiency within the same community. **Blood Cells, Molecules and Disease**, v 60, p. 58-64, 2016

RELLING, M. V. et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for Rasburicase Therapy in the Context of G6PD Deficiency genotype. **Clin. Pharm. & Ther.** v. 96, p. 169-74, 2014

ROGERS, S. C. et al. Sickle hemoglobin disturbs normal coupling among erythrocyte O₂ content, glycolysis, and antioxidant capacity. **Blood**, v 121, p. 1651-1662, 2013

SAIF, A., et al. Screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in neonates: a comparison between cord and peripheral blood samples. **BMC Pediatrics**, v. 17, p. 1-6, 2017

SCHICK, P. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Deficiency. **Medscape**. Acesso em 08/09/2017, às 13:20. Disponível em <<http://emedicine.medscape.com/article/200390-overview#showall>>

SHAH, S. S., et al. Genetic determinants of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in Kenya. **BMC Med Genet.**; v 15, p. 1-10, 2014

TEIXEIRA, P. M. S. Hemoglobinopatias: Clínica, diagnóstico e terapêutica. Março de 2014. 82 pg. **Dissertação** (mestrado) – Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Março de 2014

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE
ARACAJÚ/ UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SERGIPE/ HU-



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Prevalência da deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase em recém-nascidos do estado de Sergipe

Pesquisador: DULCE MARTA SCHIMIEGUEL MASCARENHAS LIMA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 53510016.4.0000.5546

Instituição Proponente: FUNDACAO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.516.348

Apresentação do Projeto:

O Projeto pretende estudar a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), enzima que protege as hemácias contra os agentes oxidantes enfocando a sua deficiência, doença genética hereditária ligada ao cromossomo X.

Objetivo da Pesquisa:

Detectar a prevalência da deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase em recém-nascidos do estado de Sergipe, participantes do Programa Nacional de Triagem Neonatal.

Objetivo Secundário:

- Dosar os níveis de G6PD em amostras de papel de filtro de recém-nascidos do Programa Nacional de Triagem Neonatal de Sergipe, por meio da técnica de fluorimetria
- Realizar testes confirmatórios para deficiência de G6PD utilizando a técnica de redução da metahemoglobina;
- Realizar o acompanhamento do atendimento clínico dos pacientes e familiares que apresentam a deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase;
- Dosar os níveis de G6PD em amostras de familiares dos recém-nascidos com deficiência de G6PD.

Endereço: Rua Cláudio Batista s/nº

Bairro: Sanatório

CEP: 49.060-110

UF: SE

Município: ARACAJU

Telefone: (79)2105-1805

E-mail: cephu@ufs.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE
ARACAJÚ/ UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SERGIPE/ HU-



Continuação do Parecer: 1.516.348

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Pesquisa com risco mínimo que será contornado pela explicação prévia dos procedimentos da coleta de sangue, pela garantia do sigilo e pela oferta do benefício do atendimento especializado evitando sequelas à saúde das crianças.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

É uma Pesquisa relevante, com metodologia adequada aos objetivos que pretende analisar amostras de sangue de recém-nascidos, de 3 a 7 dias após o nascimento, por meio de punção no calcanhar com armazenamento em papel de filtro. As amostras serão enviadas ao laboratório de triagem neonatal do HU da Universidade Federal de Sergipe, para realização da dosagem da glicose-6-fosfato desidrogenase.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos devidamente apresentados.

Recomendações:

Não se aplicam.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplicam.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_644691.pdf	14/04/2016 11:09:21		Aceito
Outros	CartaHU.jpg	24/02/2016 14:51:02	DULCE MARTA SCHIMIEGUEL MASCARENHAS LIMA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDeficienciadaGlicose6Fosfato.pdf	26/01/2016 11:15:45	DULCE MARTA SCHIMIEGUEL MASCARENHAS LIMA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CartaanuenciaG6PDHU.pdf	26/01/2016 11:13:04	DULCE MARTA SCHIMIEGUEL MASCARENHAS LIMA	Aceito
Folha de Rosto	FolhaderostoG6PD.pdf	26/01/2016 11:11:31	DULCE MARTA SCHIMIEGUEL	Aceito

Endereço: Rua Cláudio Batista s/nº

Bairro: Sanatório

CEP: 49.060-110

UF: SE

Município: ARACAJU

Telefone: (79)2105-1805

E-mail: cephu@ufs.br

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE
ARACAJÚ/ UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SERGIPE/ HU-



Continuação do Parecer: 1.516.348

Folha de Rosto	FolhaderostoG6PD.pdf	26/01/2016 11:11:31	MASCARENHAS LIMA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLECRIANCAS.pdf	13/01/2016 14:55:22	DULCE MARTA SCHIMIEGUEL MASCARENHAS LIMA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEPAIS.pdf	13/01/2016 14:54:33	DULCE MARTA SCHIMIEGUEL MASCARENHAS LIMA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARACAJU, 27 de Abril de 2016

Assinado por:
Anita Hermínia Oliveira Souza
(Coordenador)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – CRIANÇAS

Título do Projeto de Pesquisa: **“Prevalência da deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase em recém-nascidos do estado de Sergipe”** Pesquisador Responsável: ProfaDra Dulce Marta Schimieguel Mascarenhas Lima Instituição a que pertence o Pesquisador Responsável: Universidade Federal de Sergipe - UFS Telefones para contato: (79) 99191-8102 - (79) 3194-6319.

O seu filho (a) [neto(a), sobrinho(a), enteado(a), irmão(ã)] está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa científica. No caso de aceitar esse convite, permitirá a coleta de amostras de sangue da veia do braço ou da mão para dosagem da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase. Os riscos relativos ao procedimento de coleta de sangue são mínimos, sendo o procedimento praticamente indolor, podendo ocorrer pequenos extravasamentos de sangue no local, que são reabsorvidos pelo próprio organismo. A criança e os responsáveis terão liberdade para pedir esclarecimentos sobre qualquer questão, bem como desistir de participar da pesquisa a qualquer momento. Sua desistência não acarretará nenhuma penalidade a vocês. Como responsável por este estudo, tenho o compromisso de manter em segredo todos os dados pessoais, bem como compensá-lo caso sofra algum prejuízo físico ou moral causado pela pesquisa. Essa pesquisa tem como objetivo realizar o diagnóstico da deficiência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase que é essencial para manutenção da saúde. Serão feitos exames para diagnosticar anemias decorrentes desta deficiência enzimática. Os resultados dos exames serão entregues aos participantes, e caso necessário, serão encaminhados para acompanhamento clínico. Os pesquisadores irão esclarecer todas as dúvidas que surjam no decorrer do projeto. Todos os dados da pesquisa serão mantidos em sigilo. Os resultados ficarão guardados, sob a responsabilidade da pesquisadora da Universidade Federal de Sergipe; e somente os participantes desse estudo terão acesso às amostras e/ou resultados. Cada voluntário participante terá acesso apenas ao seu próprio resultado. A qualquer momento o (a) participante/responsável poderá solicitar e acompanhar a destruição dos seus dados, entrando em contato com o pesquisador responsável. Assim, se estiver claro para o (a) senhor (a) a finalidade desta pesquisa e se concorda em participar, peço que assine este documento. Meus sinceros agradecimentos por sua colaboração. Dulce Marta Schimieguel Mascarenhas Lima (Professora Responsável). Eu, _____

_____, RG: _____, aceito participar da pesquisa intitulada “Prevalência da deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase em recém-nascidos do estado de Sergipe” estou devidamente informado e esclarecido, como disposto acima. Nome da criança:

_____, ____ / ____ / ____

Local dia mês ano

Assinatura do Responsável



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

Título do Projeto de Pesquisa: **“Prevalência da deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase em recém-nascidos do estado de Sergipe”** Pesquisador Responsável: ProfaDra Dulce Marta Schimieguel Mascarenhas Lima Instituição a que pertence o Pesquisador Responsável: Universidade Federal de Sergipe - UFS Telefones para contato: (79) 99191-8102 - (79) 3194-6319.

O senhor (a) está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa científica. No caso de aceitar esse convite, permitirá a coleta de amostras de sangue da veia do braço ou da mão para dosagem da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase. Os riscos relativos ao procedimento de coleta de sangue são mínimos, sendo o procedimento praticamente indolor, podendo ocorrer pequenos extravasamentos de sangue no local, que são reabsorvidos pelo próprio organismo. Os participantes terão liberdade para pedir esclarecimentos sobre qualquer questão, bem como desistir de participar da pesquisa a qualquer momento. Sua desistência não acarretará nenhuma penalidade a vocês. Como responsável por este estudo, tenho o compromisso de manter em segredo todos os dados pessoais, bem como compensá-lo caso sofra algum prejuízo físico ou moral causado pela pesquisa. Essa pesquisa tem como objetivo realizar o diagnóstico da deficiência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase que é essencial para manutenção da saúde. Serão feitos exames para diagnosticar anemias decorrentes desta deficiência enzimática. Os resultados dos exames serão entregues aos participantes, e caso necessário, serão encaminhados para acompanhamento clínico. Os pesquisadores irão esclarecer todas as dúvidas que surjam no decorrer do projeto. Todos os dados da pesquisa serão mantidos em sigilo. Os resultados ficarão guardados, sob a responsabilidade da pesquisadora da Universidade Federal de Sergipe; e somente os participantes desse estudo terão acesso às amostras e/ou resultados. Cada voluntário participante terá acesso apenas ao seu próprio resultado. A qualquer momento o (a) participante poderá solicitar e acompanhar a destruição dos seus dados, entrando em contato com o pesquisador responsável. Assim, se estiver claro para o (a) senhor (a) a finalidade desta pesquisa e se concorda em participar, peço que assine este documento. Meus sinceros agradecimentos por sua colaboração. Dulce Marta Schimieguel Mascarenhas Lima (Professora Responsável).

Eu, _____
 _____, RG: _____, aceito participar da pesquisa intitulada “Prevalência da deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase em recém-nascidos do estado de Sergipe” estou devidamente informado e esclarecido, como disposto acima.

_____, ____ / ____ / ____
 Local dia mês ano

 Assinatura do Responsável